

**BEST AVAILABLE COPY**

PCT/FR2004/050352

REC'D	15 OCT 2004
WIPO	PCT

# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

### COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 16 SEP. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Martine PLANCHE'.

Martine PLANCHE

### PRIORITY DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIETE  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersbourg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
[www.inpi.fr](http://www.inpi.fr)



# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

26bis, rue de Saint-Pétersbourg  
75800 Paris Cédex 08  
Téléphone: 01 53.04.53.04 Télécopie: 01.42.94.86.54

Code de la propriété intellectuelle-livreVI

## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

DATE DE REMISE DES PIÈCES: <i>30 juillet 2003</i> N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL: <i>0350383-</i> DÉPARTEMENT DE DÉPÔT: <i>75 Paris</i> DATE DE DÉPÔT: <i>30 juillet 2003</i>	Olivier PITTIS L'AIR LIQUIDE, SA 75 quai d'Orsay 75321 PARIS CEDEX 07 France
Vos références pour ce dossier: S6132OP/MM	

### 1 NATURE DE LA DEMANDE

Demande de brevet

### 2 TITRE DE L'INVENTION

Médicament gazeux inhalable à base de xénon et de protoxyde d'azote

### 3 DECLARATION DE PRIORITE OU REQUETE DU BENEFICE DE LA DATE DE DEPOT D'UNE DEMANDE ANTERIEURE FRANCAISE

Pays ou organisation      Date      N°

### 4-1 DEMANDEUR

Nom	AIR LIQUIDE SANTE (INTERNATIONAL)
Rue	10 rue Cognacq-Jay
Code postal et ville	75341 CEDEX 07 PARIS
Pays	France
Nationalité	France
Forme juridique	Société anonyme
N° SIREN	552 134 724
Code APE-NAF	671C

### 5A MANDATAIRE

Nom	PITTIS
Prénom	Olivier
Qualité	Liste spéciale, Pouvoir général: 10696
Cabinet ou Société	L'AIR LIQUIDE, SA
Rue	75 quai d'Orsay
Code postal et ville	75321 PARIS CEDEX 07
N° de téléphone	01 40 62 54 49
N° de télécopie	01 40 62 56 95
Courrier électronique	olivier.pittis@airliquide.com

<b>6 DOCUMENTS ET FICHIERS JOINTS</b>		Fichier électronique	Pages	Détails	
Texte du brevet		textebrevet.pdf	14	D 11, R 2, AB 1	
Dessins		dessins.pdf	4	page 4, figures 3, Abrégé: page 4, Fig.3	
Désignation d'inventeurs					
Pouvoir général					
<b>7 MODE DE PAIEMENT</b>					
Mode de paiement		Prélèvement du compte courant			
Numéro du compte client		516			
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b>					
Etablissement immédiat					
<b>9 REDEVANCES JOINTES</b>		Devise	Taux	Quantité	Montant à payer
062 Dépôt		EURO	0.00	1.00	0.00
063 Rapport de recherche (R.R.)		EURO	320.00	1.00	320.00
068 Revendication à partir de la 11ème		EURO	15.00	5.00	75.00
Total à acquitter		EURO			395.00

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire.  
 Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

Signataire: FR, L'Air Liquide SA, O.Pittis

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

AIR LIQUIDE SANTE (INTERNATIONAL) (Demandeur 1)



## BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITE

### Réception électronique d'une soumission

Il est certifié par la présente qu'une demande de brevet (ou de certificat d'utilité) a été reçue par le biais du dépôt électronique sécurisé de l'INPI. Après réception, un numéro d'enregistrement et une date de réception ont été attribués automatiquement.

Demande de brevet : X

Demande de CU :

<b>DATE DE RECEPTION</b>	30 juillet 2003	
<b>TYPE DE DEPOT</b>	INPI (PARIS) - Dépôt électronique	Dépôt en ligne: X Dépôt sur support CD:
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUE PAR L'INPI</b>	0350383	
<b>Vos références pour ce dossier</b>	S6132OP/MM	

#### DEMANDEUR

Nom ou dénomination sociale	AIR LIQUIDE SANTE (INTERNATIONAL)
Nombre de demandeur(s)	1
Pays	FR

#### TITRE DE L'INVENTION

Médicament gazeux inhalable à base de xénon et de protoxyde d'azote

#### DOCUMENTS ENVOYES

package-data.xml	Requetefr.PDF	fee-sheet.xml
Design.PDF	ValidLog.PDF	textebrevet.pdf
FR-office-specific-info.xml	application-body.xml	request.xml
dessins.pdf	indication-bio-deposit.xml	

#### EFFECTUE PAR

Effectué par:	O.Pittis
Date et heure de réception électronique:	30 juillet 2003 11:27:40
Empreinte officielle du dépôt	9A:A6:5F:65:6D:BF:64:EC:B3:E1:06:31:80:1D:BE:02:D3:B7:DS:A5

/ INPI PARIS, Section Dépôt /

SIEGE SOCIAL  
 INSTITUT 26 bis, rue du Saint-Pétersbourg  
 NATIONAL DE 75800 PARIS codex 08  
 LA PROPRIETE Téléphone : 01 53 04 63 04  
 INDUSTRIELLE Télécopie : 01 42 93 59 30

L'invention porte sur l'utilisation d'un mélange gazeux contenant du xénon et du protoxyde d'azote ( $N_2O$ ) pour fabriquer tout ou partie d'un médicament inhalable destiné à traiter ou à prévenir une pathologie à effet neurotoxique, c'est-à-dire une neuro-intoxication, notamment les effets neurotoxiques de drogues ou autres substances générant une addiction.

Dans les pathologies liées aux effets neurotoxiques des drogues générant une addiction, telles les amphétamines, il est admis que la neurotransmission dopaminergique d'origine nigrostriatale et mésolimbique participe des effets psycho-stimulants et neurotoxiques de ces drogues.

Cependant, des travaux récents de Del Arco et al., *Neuropharmacology*, 38: 943, 1999, ont montré que les effets facilitateurs des amphétamines ne se limitent pas à la neurotransmission dopaminergique.

Ainsi, au niveau du complexe striatum-noyau accumbens, les amphétamines induisent non seulement une augmentation de la libération de dopamine mais également une augmentation de la libération de sérotonine, de taurine, d'acide  $\gamma$ -amino-butyrique (GABA), et de glutamate.

De façon particulièrement intéressante, il a été montré que l'inhibition spécifique des transporteurs du glutamate permet de diminuer à la fois l'hyperactivité (David, Thévenoux et Abraimi, *Neuropharmacology*, 2001) et l'augmentation de glutamate, mais pas de dopamine (Del Arco et al., *Neuropharmacology* 38: 943, 1999), consécutives à l'injection d'amphétamines, suggérant ainsi un rôle déterminant du glutamate dans les effets psychostimulants des amphétamines.

Par ailleurs, des travaux récents, réalisés *in vitro*, ont montré que le xénon et le protoxyde d'azote ( $N_2O$ ) peuvent se comporter comme des antagonistes de faible affinité des récepteurs glutamatergiques au N-Méthyl-D-Aspartate (NMDA ; Franks et al., *Nature* 396: 324, 1998; Jevtic-Todorovic et al., *Nature Med.* 4: 460, 1998).

En outre, dans le cadre de l'étude du système opioïde hyperalgésique endogène dans la réponse placebo négative, F.J. Lichtigfeld et M.A. Gillman, *Intern. J. Neuroscience*, 1989, vol. 49, p. 71-74 concluent à un effet du protoxyde d'azote sur le sevrage alcoolique un peu

meilleur que l'effet placebo, bien que, pour plus de 50% des individus, un effet positif identique a aussi été constaté avec le placebo.

Toutefois, les mêmes auteurs ajoutent, dans Nitrous Oxide and the Aws, p. 785, que l'effet bénéfique du protoxyde d'azote dépendant étroitement de sa concentration car des concentrations anesthésiques ou pré-anesthésiques sont inefficaces, voire même contre-productives dans certains cas ; une concentration analgésique étant recommandée.  
5

Dans Postgrad. Med. J., Clinical Toxicology, 1990, 66, p. 543-546, les mêmes auteurs expliquent que les concentrations en protoxyde d'azote peuvent varier de moins de 15% à plus de 70% selon les individus et ce, en fonction de leur degré de dépendance à l'alcool.

10 Par ailleurs, le document EP-A-1158992 enseigne l'utilisation de xénon ou d'un mélange de xénon avec de l'oxygène, de l'azote ou de l'air pour traiter les neuro-intoxications.

Toutefois, l'utilisation de xénon ou des mélanges décrits par ce document n'est pas totalement satisfaisante en pratique, notamment du fait de l'apparition d'une toxicité pour certaines teneurs en xénon et compte tenu du coût élevé de ce composé.

15 La présente invention s'inscrit dans ce contexte et vise à améliorer les médicaments inhalables existant destinés à prévenir ou traiter efficacement un état d'addiction chez l'être humain, c'est-à-dire tout trouble, désordre ou pathologie lié aux effets neurotoxiques, en particulier aux effets neurotoxiques de drogues générant une addiction.

La solution de l'invention porte alors sur l'utilisation d'un mélange gazeux contenant  
20 du xénon (Xe) gazeux et du protoxyde d'azote (N<sub>2</sub>O) gazeux pour fabriquer tout ou partie d'un médicament inhalable destiné à prévenir ou à traiter une neuro-intoxication chez l'homme.

Selon le cas, l'utilisation de l'invention peut comprendre l'une ou plusieurs des caractéristiques techniques suivantes :

- la neuro-intoxication résulte d'un excès cérébral d'un ou plusieurs  
25 neurotransmetteurs.

- le mélange contenant du xénon et du protoxyde d'azote agit sur au moins un récepteur cérébral de manière à diminuer les effets et/ou la libération de dopamine, glutamate, serotonin, taurine, GABA, noradrénaline et/ou de tout autre neurotransmetteur.

- la proportion volumique de xénon est comprise entre 5 et 45% et la proportion  
30 volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 10 et 50 %.

- la proportion volumique de xénon est comprise entre 20 et 40% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 10 et 40 %.

- la proportion volumique de xénon est comprise entre 20 et 32% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 20 et 40 %, de préférence les proportions volumiques de xénon et de protoxyde d'azote sont chacune de l'ordre de 30%.

- la proportion volumique de xénon est comprise entre 10 et 20% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 40 et 50 %, de préférence la proportion volumique de xénon est de l'ordre de 16 % et la proportion volumique de protoxyde d'azote est de l'ordre de 50%.

10 - le médicament contient, en outre, de l'oxygène, un mélange oxygène/azote ou de l'air, de préférence le mélange gazeux est constitué de xénon, de protoxyde d'azote et d'oxygène pour le reste.

15 - la neuro-intoxication est du type engendrant un état d'addiction, c'est-à-dire un trouble, un désordre ou une pathologie lié aux effets neurotoxiques d'une drogue, molécule ou substance générant une addiction, une dépendance et/ou une accoutumance chez l'homme ou l'animal. La substance, drogue ou molécule générant l'addiction est choisie dans le groupe formé par les amphétamines et leurs dérivés, la cocaïne, le tabac, l'alcool et le cannabis, ou toute autre drogue similaire ou analogue.

20 - le médicament inhalable est conditionné à une pression de 2 bars à 350 bars, de préférence entre 2 bars et 200 bars.

- le médicament est prêt-à-l'emploi, c'est-à-dire qu'il peut être administré au patient directement sans subir de pré-dilution.

L'invention porte aussi sur un médicament inhalable gazeux formé de xénon, de protoxyde d'azote et éventuellement d'oxygène.

25 Selon le cas, le mélange gazeux de l'invention peut comprendre l'une ou plusieurs des caractéristiques techniques suivantes :

- il est constitué de 5 à 32% en volume xénon, de 10 et 50 % de protoxyde d'azote, et d'oxygène pour le reste.

30 - il est constitué de 20 à 32% en volume xénon, de 20 et 40 % de protoxyde d'azote, et d'oxygène pour le reste, de préférence les proportions volumiques de xénon et de protoxyde d'azote sont chacune de l'ordre de 30%.

- il est constitué de 10 à 20% en volume xénon, de 45 et 50 % de protoxyde d'azote et d'oxygène pour le reste, de préférence la proportion volumique de xénon est de l'ordre de 16% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est de l'ordre de 50%.

Autrement dit, l'idée à la base de la présente invention est donc que les propriétés antagonistes des récepteurs NMDA du xénon et du protoxyde d'azote peuvent être utilisées, de manière combinée ou synergique, pour leur caractère neuro-protecteur dans la prévention et/ou le traitement des troubles ou désordres liés aux effets neurotoxiques, en particulier des effets neurotoxiques des drogues générant une addiction, telles que les amphétamines et leurs dérivés, la cocaïne, le tabac, l'alcool, le cannabis ou tout autre substance engendrant une dépendance, notamment tout ou partie d'un médicament gazeux inhalable.

De façon générale, le médicament selon l'invention est administrable au patient par ses voies aériennes supérieures, c'est-à-dire par inhalation via son nez et/ou sa bouche, au moyen d'un dispositif d'administration adapté comprenant une interface respiratoire patient, tel qu'un masque respiratoire ou une sonde trachéale, une ou plusieurs canalisations d'alimentation servant à acheminer le médicament gazeux depuis une source contenant ledit médicament jusqu'à l'interface, et un ventilateur médical servant à envoyer et/ou extraire le gaz du patient.

Exemples : Mise en évidence du potentiel neuroprotecteur du xénon et du protoxyde d'azote

Afin d'évaluer le potentiel neuroprotecteur du xénon et du protoxyde d'azote gazeux, dont les propriétés antagonistes des récepteurs glutamatergiques de type NMDA ont été récemment mis en évidence, sur la sensibilisation aux amphétamines, des études comportementales, neurochimiques et histologiques ont été réalisées comme décrit ci-après.

Des rats mâles Sprague-Dawley d'un poids d'environ 250 g ont été utilisés durant les expériences.

Durant les tests, le protocole de sensibilisation à la d-amphétamine et les essais de traitement au protoxyde d'azote et au xénon ont été les suivants.

15 groupes d'animaux (de 7 ou 8 animaux chacun) ont été utilisés, dont 10 groupes lors des études de sensibilisation proprement dites et 5 autres groupes pendant les études histologiques des neurones des cortex cingulé postérieur et rétosplénial.

Les animaux ont été injectés par voie intra-péritonéale (i.p.) pendant 3 jours consécutifs  
5 de J1 à J3, avec de la d-amphétamine (Amph ; 1 mg/ml/kg) ou, selon le cas, une solution saline (1 ml/kg) pour les animaux témoins.

Après chaque injection, les rats étaient immédiatement placés pendant 3 heures dans une enceinte close, d'un volume de 100 litres, balayée en régime dynamique à un débit constant de 5 l.min<sup>-1</sup>, soit par de l'air (Groupe 1 : saline ; Groupe 2 : Amph), soit par du protoxyde d'azote à 50% en volume (Groupe 3 : saline ; Groupe 4 : Amph) ou 75 % (Groupe 10 : saline ; Groupe 5 : Amph), soit par du xénon à 50 % en volume (Groupe 6 : saline ; Groupe 7 : Amph) ou 75 % (Groupe 8 : saline ; Groupe 9 : Amph) ou 75 % (Groupe 10 : saline ; Groupe 11 : Amph); le reste des mélanges (complément à 100%) étant de l'oxygène.

Afin d'identifier le potentiel neurotoxique éventuel de l'exposition répétée (3h par jour  
15 pendant 3 heures) au protoxyde d'azote ou au xénon au niveau des cortex cingulé postérieur et rétosplénial, 5 groupes supplémentaires d'animaux ont été prétraités, selon un protocole identique à celui défini ci-dessus, par administration d'une solution saline puis exposés soit à de l'air (Groupe 12), soit à du protoxyde d'azote à 50 ou 75 % (Groupes 13 et 14), soit à du xénon à 50 ou 75 % (Groupes 15 et 16).

20 L'activité locomotrice des animaux des groupes 1 à 10 a été évaluée à J6, après une injection i.p. d'une solution saline (1 ml/kg), et à J7 après une injection i.p. de d-amphétamine (1 mg/ml/kg). L'activité locomotrice des animaux en réponse à ces injections a été enregistrée au moyen de cages d'actimétrie à cellules photoélectriques (Imétronic, Pessac, France).

Par ailleurs, des études neurochimiques, en plus des études histologiques et  
25 comportementales ci-dessus, ont été réalisées sur des tranches des cerveaux de ces rats afin d'identifier les mécanismes de l'action du protoxyde d'azote et du xénon, et afin d'évaluer le potentiel neurotoxique du protoxyde d'azote et du xénon.

Pour ce faire, après traitement, les animaux étaient sacrifiés à J8 par décapitation  
sous anesthésie générale à l'halothane, puis la boîte crânienne immédiatement placée dans  
30 une solution de paraformaldéhyde pendant une semaine. Le cerveau était prélevé, enrobé dans la paraffine et sectionné en coupes frontales de 4 µm montées sur lames gélatinées et

colorées avec une solution hémalun-éosine-safran. Les cortex cingulé postérieur et rétosplénial ont été analysés au microscope optique (x 400).

- En outre, la préparation des tranches de noyau accumbens a été opérée comme suit.
- Les animaux ont été décapités sous anesthésie légère à l'halothane, puis le cerveau
- 5 rapidement prélevé. Des sections frontales de 300 µm, correspondant à une antériorité de +0.70/1.20 mm (par rapport au Bregma, Paxinos et Watson, 1998), ont été prélevées à l'aide d'un *chopper* (Mickie Laboratory Engineering Company, Gomshall, Surrey, UK). Les tranches de cerveau ont été placées pour récupération dans une solution saline tamponnée d'une température de 3-4 °C pendant au moins 1 heure avant utilisation pour étude neurochimique.
- 10 La mesure de la libération de dopamine a été réalisée par la technique de voltamétrie impulsionnelle différentielle normale au moyen d'une électrode de carbone à fibre unique d'un diamètre de 10 µm et de longueur 250 µm (CFN10-250 ; World Precision Instruments, Aston, Stevenage, Hertfordshire, UK). Le traitement électrochimique permettant de rendre ce type d'électrode sensible à la dopamine, consistait en l'application dans une solution saline
- 15 phosphate tamponnée d'un courant continu de -1.5 V pendant 20 s, puis d'un courant triangulaire de +2.6 V pendant également 20 s sur l'électrode de travail (Brazell *et al.*, 1987). Dans ces conditions, le signal dopaminergique apparaît à un potentiel de + 100 mV.

Les tranches de cerveau de rat étaient alors placées dans une cuve à organe et perfusées avec un liquide céphalorachidien artificiel de composition : NaCl 118 mM, MgCl<sub>2</sub> 2.18 mM, KCl 4.9 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.25 mM, CaCl<sub>2</sub> 1.25 mM, NaHCO<sub>3</sub> 3.6 mM, d-glucose 10 mM, HEPES 30 mM, pH 7.4, dont la température était régulée à 34 ± 1 °C au moyen d'un contrôleur de température (Delta 4 Culture Dish Controller, Bioparts, Butler, PA, USA). L'électrode était placée sous contrôle microscopique (microscope EFN 600, Nikon, Paris, France), à 100 µm de la commissure antérieure, à l'aide d'un micromètre optique incorporé au microscope, puis totalement descendue dans le noyau accumbens, selon un angle de 45°, et reliée au polarographe Biopulse réglé en mode voltamétrie impulsionnelle différentielle normale aux paramètres suivants : potentiel de balayage -150+350 mV ; durée du balayage 0.4s, amplitude de balayage 4 mV, pour une vitesse de balayage de 10 mV.s<sup>-1</sup>; impulsion de mesure 40 ms ; préimpulsion de mesure 70 ms ; amplitude de mesure 30 mV.

L'hyperstimulation dopaminergique était induite par adjonction au liquide de perfusion de d-amphétamine. De l'air médical, du protoxyde d'azote ou du xénon était dissous, jusqu'à saturation, avant utilisation dans le liquide de perfusion, dont le pH était réajusté à 7.4.

La d-amphétamine (d-amphétamine sulfate, ref. A5880) a été acquise après 5 autorisation de l'unité stupéfiants et psychotropes de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé auprès de Sigma-Aldrich (Illkirch, France).

L'air médical, le protoxyde d'azote et le xénon ont été fournis par Air Liquide Santé International (Paris, France). Les mélanges à base de protoxyde d'azote, d'oxygène et/ou de xénon ont été réalisés, au moyen de débit-litres calibrés également fournis par Air Liquide 10 Santé International.

Les résultats obtenus, consignés sur les Figures 1 et 2 annexées, sont exprimés par la moyenne  $\pm$  l'erreur standard. La comparaison des groupes a été réalisée au moyen de tests non-paramétriques : l'analyse de variance de Kruskall-Wallis, complétée en cas de résultat significatif du test U de Mann-Whitney.

15 Plus précisément, au niveau comportemental, les histogrammes de gauche des figures 1 et 2 illustrent le processus de sensibilisation induit par l'administration répétée de d-amphétamine puisque :

- la figure 1 représente les effets du protoxyde d'azote à 50 vol% et 75 vol% (reste oxygène) sur la sensibilisation à la d-amphétamine ; et
- 20 - la figure 2 illustre les effets du xénon à 50% et 75% sur la sensibilisation à la d-amphétamine.

On peut constater sur ces Figures que l'injection répétée de d-amphétamine produit une augmentation de l'activité locomotrice induite par l'injection aiguë de d-amphétamine, de sorte que l'activité locomotrice des animaux prétraités à la d-amphétamine (*amph* sur la 25 Figure) apparaît significativement supérieure à celle des animaux témoins prétraités au moyen d'une solution saline (*saline* sur la Figure), lors du test à la d-amphétamine réalisée à J7 ( $P < 0.05$ ).

Par contre, une injection répétée de J1 à J3 de d-amphétamine ne produit aucune différence significative d'activité locomotrice entre les animaux prétraités à la d-amphétamine 30 et les animaux témoins en réponse au test saline réalisé à J6.

Concernant la Figure 1, on constate que, dans les conditions expérimentales ci-dessus, l'exposition au protoxyde d'azote, immédiatement après le prétraitement à la d-amphétamine, induit un blocage dose-dépendant du processus de sensibilisation.

Ainsi, l'activité locomotrice des animaux prétraités à la d-amphétamine et au 5 protoxyde d'azote à 50 vol% induite par le test à la d-amphétamine réalisé à J7 n'apparaît pas significativement différente de l'activité motrice des rats prétraités par une solution saline et du protoxyde d'azote à 50 vol%, ni de celle des animaux prétraités à la d-amphétamine et à l'air.

Ce résultat témoigne d'un blocage partiel du processus de sensibilisation, dans les conditions expérimentales ci-dessus.

10 L'exposition au protoxyde d'azote à 75 vol%, immédiatement après le prétraitement à la d-amphétamine, produit un blocage significatif du processus de sensibilisation, de sorte que l'activité locomotrice des animaux prétraités à la d-amphétamine et au protoxyde d'azote à 75 vol% induite par le test à la d-amphétamine réalisé à J7 apparaît significativement inférieure à celle des animaux prétraités à la d-amphétamine et à l'air ( $P < 0.05$ ), mais non 15 significativement différente de celle des animaux prétraités par une solution saline et du protoxyde d'azote à 75 vol%. Par ailleurs, aucun effet 'gaz' n'a été trouvé chez les rats prétraités par une solution saline lors du test à la d-amphétamine aiguë réalisé à J7, ce qui montre que le N<sub>2</sub>O bloque la sensibilisation à l'origine des états d'addiction et dépendance mais n'a pas d'effet sur l'administration aiguë de drogue.

20 De même, aucune différence significative d'activité motrice n'a été trouvée en réponse au test saline à J6, ce qui montre que les gaz n'ont pas d'effet sédatif à long terme.

Concernant la Figure 2, on peut voir que, dans les conditions expérimentales ci-avant, quelle que soit la concentration de xénon utilisée, soit 50 vol% ou 75 vol%, l'activité locomotrice des animaux prétraités à la d-amphétamine et au xénon induite par le challenge à 25 la d-amphétamine réalisé à J7 produit un blocage de la sensibilisation à la d-amphétamine, de sorte que l'activité locomotrice des animaux prétraités à la d-amphétamine et au xénon apparaît significativement inférieure à celle des animaux prétraités à la d-amphétamine et à l'air ( $P < 0.05$ ), mais non différente de celle des animaux prétraités par une solution saline et du xénon.

Comme pour le protoxyde d'azote (Fig. 1), aucune différence significative d'activité locomotrice n'a été trouvée en réponse au test saline à J6, ce qui démontre là aussi que les gaz n'ont pas d'effet sédatif à long terme.

Par contre, chez les animaux prétraités par une solution saline, on note une augmentation significative de la réponse à la d-amphétamine chez les animaux ayant reçu du xénon à 75 vol%, comparativement aux animaux prétraités à l'air ou au xénon à 50 vol%, ce qui pourrait rendre compte d'une sensibilisation des récepteurs NMDA et d'un possible effet toxique du xénon à haute dose, c'est-à-dire de l'ordre de 75% en volume.

Par ailleurs, une étude histologique des cortex cingulé postérieur et rétroplénial montre chez les rats exposés au xénon à 75 vol% une clarification cytoplasmique généralisée associée à un aspect picnotique des noyaux cellulaires, ainsi que l'apparition chez quelques animaux de vacuoles cytoplasmiques, qui suggèrent, en accord avec l'activité motrice, un effet neurotoxique de l'administration répétée, 3 jours consécutifs, de xénon à 75 vol%.

Aucun effet similaire n'a été trouvé chez des rats exposés à l'air médical, au protoxyde d'azote à 75 vol%, ou au xénon à 50 vol%.

Par ailleurs, la Figure 3 illustre les effets du protoxyde d'azote sur l'augmentation de la libération de dopamine dans le noyau accumbens induite par la d-amphétamine. Des résultats identiques ont été obtenus avec du xénon à 50%.

L'adjonction de d-amphétamine à  $10^{-5}$  M engendre une augmentation significative du signal par rapport au signal de base mesuré ( $P < 0.05$ ).

Cette augmentation de la libération de dopamine dans le noyau accumbens est significativement réduite en présence de protoxyde d'azote à 75% ou de xénon à 50% (en vol.) dans le liquide de perfusion ( $P < 0.05$ ).

Sans adjonction de d-amphétamine, le signal se maintient stable pendant toute la durée de l'expérience.

En définitive, les résultats obtenus montrent clairement que le protoxyde d'azote et le xénon ont des effets inhibiteurs sur la sensibilisation à la d-amphétamine et la libération de dopamine qui y est associée.

Ainsi, l'exposition simultanée des animaux au protoxyde d'azote ou au xénon lors de la phase de sensibilisation à la d-amphétamine bloque totalement, dans le cas du protoxyde

d'azote à 75 vol% ou du xénon à 50 vol% et 75 vol%, l'hyperactivité locomotrice due à la sensibilisation en réponse à l'administration aiguë de d-amphétamine.

Si l'on considère que le protoxyde d'azote et le xénon ne montrent pas d'effet sur les récepteurs glutamatergiques de type AMPA (Yakamura et Harris, 2000), leurs effets 5 inhibiteurs peuvent être attribués à leurs propriétés antagonistes des récepteurs glutamatergiques de type NMDA (Jevtovic-Todorovic *et al.*, 1998 ; Franks *et al.*, 1998 ; Yakamura *et al.*, 2000) mais aussi à leurs propriétés antagonistes des récepteurs cholinergiques de type nicotinique et à leurs propriétés agonistes des récepteurs GABAergiques de type A.

10 La co-administration d'antagonistes des récepteurs glutamatergiques de type NMDA avec des amphétamines permet de bloquer le processus de sensibilisation et la libération de dopamine qui y est associée.

Par ailleurs, les résultats obtenus montrent aussi que 75 vol% de protoxyde d'azote et seulement 50 vol% de xénon sont nécessaires pour bloquer le processus de sensibilisation.

15 Cependant, au vu des effets à la fois comportementaux et histologiques observés avec du xénon en forte teneur, une utilisation de xénon à 75 % n'est pas recommandée..

En effet, les animaux prétraités (de J1 à J3) avec une solution saline et du xénon à 75 % montrent une activité locomotrice supérieure à celle des animaux témoins prétraités, saline + air, lors du test à la d-amphétamine (réalisé à J7), laquelle pourrait rendre compte d'une 20 sensibilisation des récepteurs NMDA.

Par ailleurs, le xénon à 75 % engendre une clarification cytoplasmique aggravée, dans quelques cas, d'une vacuolisation des neurones des cortex cingulé postérieur et rétrosplénial, qui signe sans conteste un processus neurotoxique.

Autrement dit, le protoxyde d'azote à 75 vol. % ou le xénon à 50 vol.% et 75 vol.% 25 bloquent le processus de sensibilisation comportementale à la d-amphétamine mais le xénon à 75 vol% induit également une augmentation de la réponse aiguë à la d-amphétamine qui pourrait traduire une modification de la sensibilité des récepteurs mis en jeu et un processus potentiellement délétère, ce qui étaye les études histologiques.

De plus, le protoxyde d'azote et le xénon à 50 vol% ou 75 vol% bloquent 30 l'augmentation de la libération de dopamine induite par la d-amphétamine.

Tous ces résultats montrent les effets inhibiteurs incontestables du protoxyde d'azote et du xénon sur la sensibilisation à la d-amphétamine et les processus neurochimiques qui y sont associés.

De là, pour bénéficier des avantages procurés par le xénon mais sans engendrer les effets délétères ou neurotoxiques susmentionnés, en particulier dans le cas des neuropathies plus sévères présentant une composante glutamatergique excitotoxique, et sans être pénalisé par le coût élevé de ce gaz, il est alors recommandé d'utiliser non pas le xénon seul mais plutôt un mélange gazeux formé de xénon et de protoxyde d'azote, la teneur en xénon devant être maintenue très éloignée du seuil de toxicité de ce composé, c'est-à-dire typiquement inférieure ou égale à environ 60% chez l'homme (soit environ 75% chez le rat).

Ainsi, des mélanges gazeux contenant de 5 et 35% en volume de xénon gazeux et de 10 et 50% en volume de protoxyde d'azote gazeux (et d'oxygène pour le reste) sont tout à fait appropriés pour être utilisés en tant que médicament inhalable gazeux servant à prévenir ou à traiter les neuro-intoxications chez l'homme ou l'animal.

En effet, en utilisant des mélanges appropriés à base de xénon et de protoxyde d'azote, on peut bénéficier des effets de ces deux composés sans rencontrer les problèmes susmentionnés.

Revendications

- 1 – Utilisation d'un mélange gazeux contenant du xénon gazeux et du protoxyde d'azote gazeux pour fabriquer tout ou partie d'un médicament inhalable destiné à prévenir ou 5 à traiter une neuro-intoxication chez l'homme.
- 2 – Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que la neuro-intoxication résulte d'un excès cérébral d'un ou plusieurs neurotransmetteurs.
- 3 – Utilisation selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que le mélange contenant du xénon et du protoxyde d'azote agit sur au moins un récepteur cérébral 10 de manière à diminuer la libération et/ou les effets de dopamine, glutamate, sérotonine, taurine, GABA, noradrénaline et/ou de tout autre neurotransmetteur.
- 4 – Utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que la proportion volumique de xénon est comprise entre 5 et 45% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 10 et 50%, de préférence le reste est de l'oxygène, de 15 préférence encore la proportion volumique de xénon est comprise entre 20 et 40% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 10 et 40%.
- 5 – Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que la proportion volumique de xénon est comprise entre 20 et 32% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 20 et 40 %, de préférence les proportions volumiques de 20 xénon et de protoxyde d'azote sont chacune de l'ordre de 30%.
- 6 - Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que la proportion volumique de xénon est comprise entre 10 et 20% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 40 et 50 %, de préférence la proportion volumique de xénon est de l'ordre de 16 % et la proportion volumique de protoxyde d'azote est de l'ordre de 25 50%.
- 7 - Utilisation selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que le médicament contient, en outre, de l'oxygène, un mélange oxygène/azote ou de l'air, de préférence le mélange gazeux est constitué de xénon, de protoxyde d'azote et d'oxygène pour le reste.
- 30 8 - Utilisation selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que le médicament est prêt-à-l'emploi.

9 - Utilisation selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisée en ce que la neuro-intoxication est du type engendant un état d'addiction.

10 - Mélange gazeux constitué de xénon, de protoxyde d'azote et d'oxygène.

5        11 - Mélange gazeux contenant du xénon et du protoxyde d'azote en tant que médicament inhalable, de préférence il contient de 5 à 35% en volume xénon et de 10 et 50 % en volume de protoxyde d'azote.

12 - Mélange gazeux constitué de xénon, de protoxyde d'azote et d'oxygène en tant que médicament inhalable.

10        13 – Mélange selon l'une des revendications 10 ou 12, caractérisé en ce qu'il contient de 5 à 35% en volume xénon, de 10 et 50 % en volume de protoxyde d'azote et de l'oxygène pour le reste.

15        14 – Mélange selon l'une des revendications 10 à 13, caractérisé en ce qu'il est constitué de 20 à 32% en volume xénon, de 20 et 40 % de protoxyde d'azote et d'oxygène pour le reste, de préférence les proportions volumiques de xénon et de protoxyde d'azote sont chacune de l'ordre de 30%.

20        15 – Mélange selon l'une des revendications 11 à 13, caractérisé en ce qu'il est constitué de 10 à 20% en volume xénon, de 45 et 50 % de protoxyde d'azote et d'oxygène pour le reste, de préférence la proportion volumique de xénon est de l'ordre de 16% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est de l'ordre de 50%.

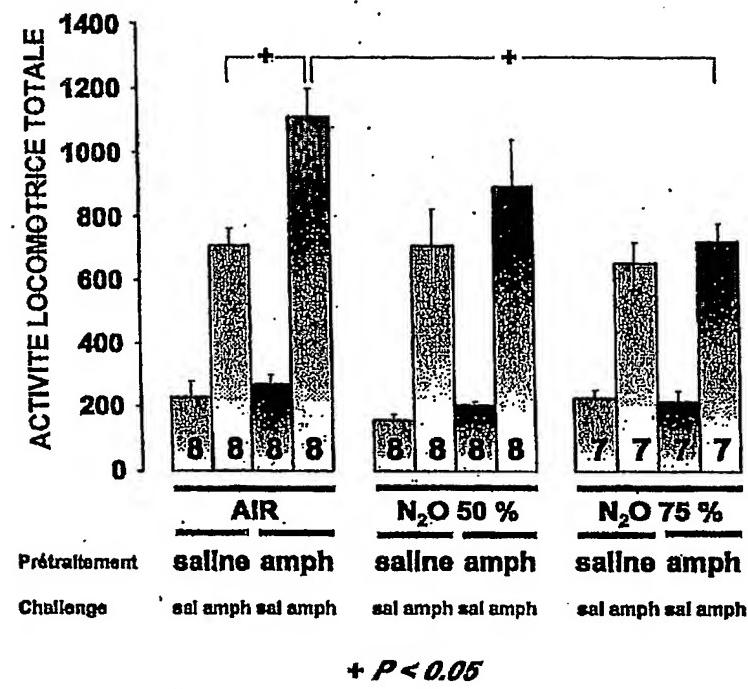
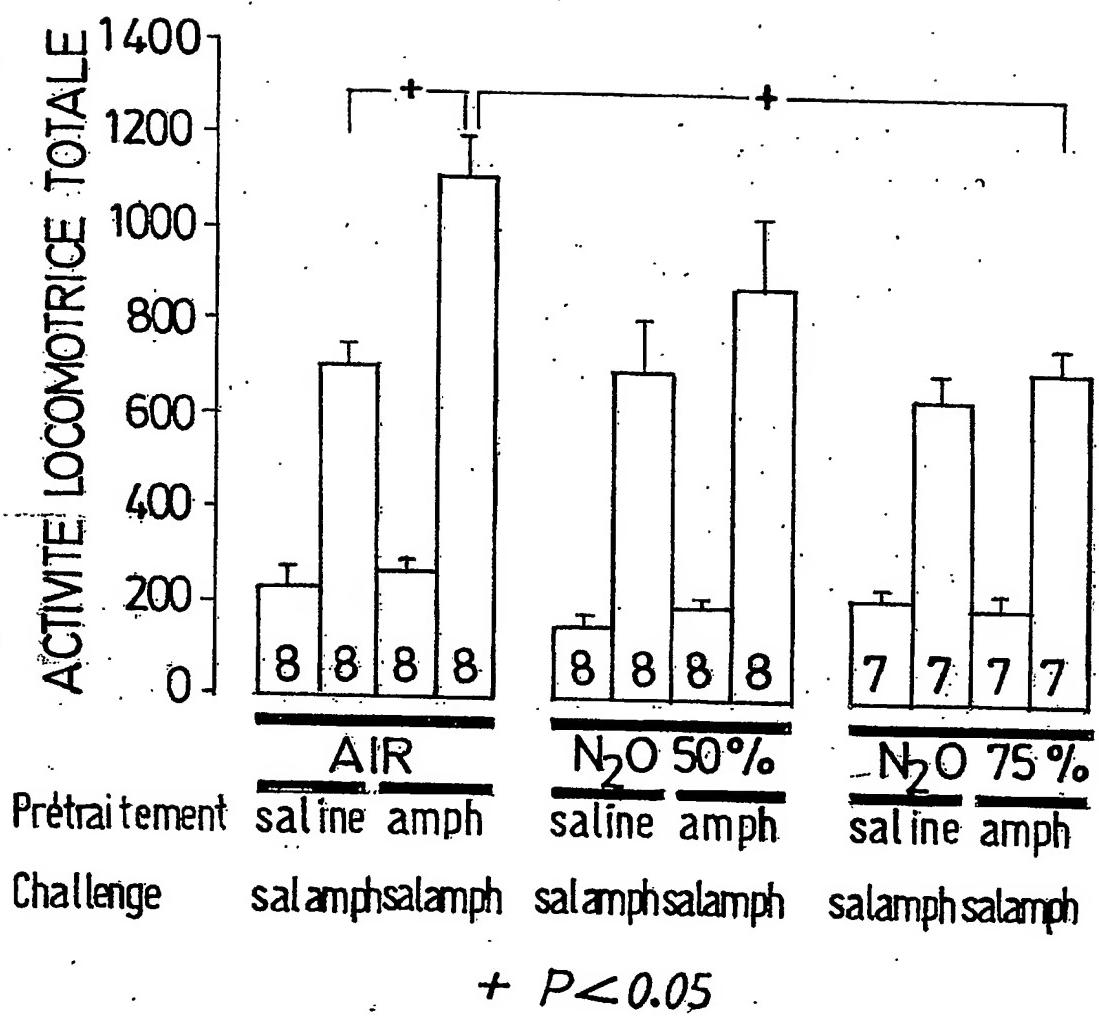
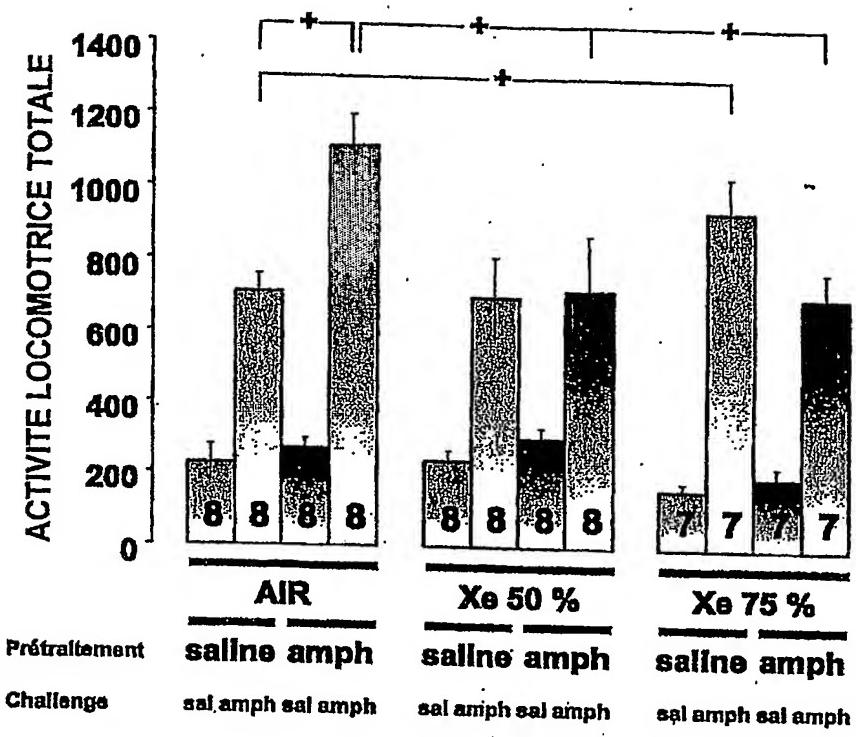


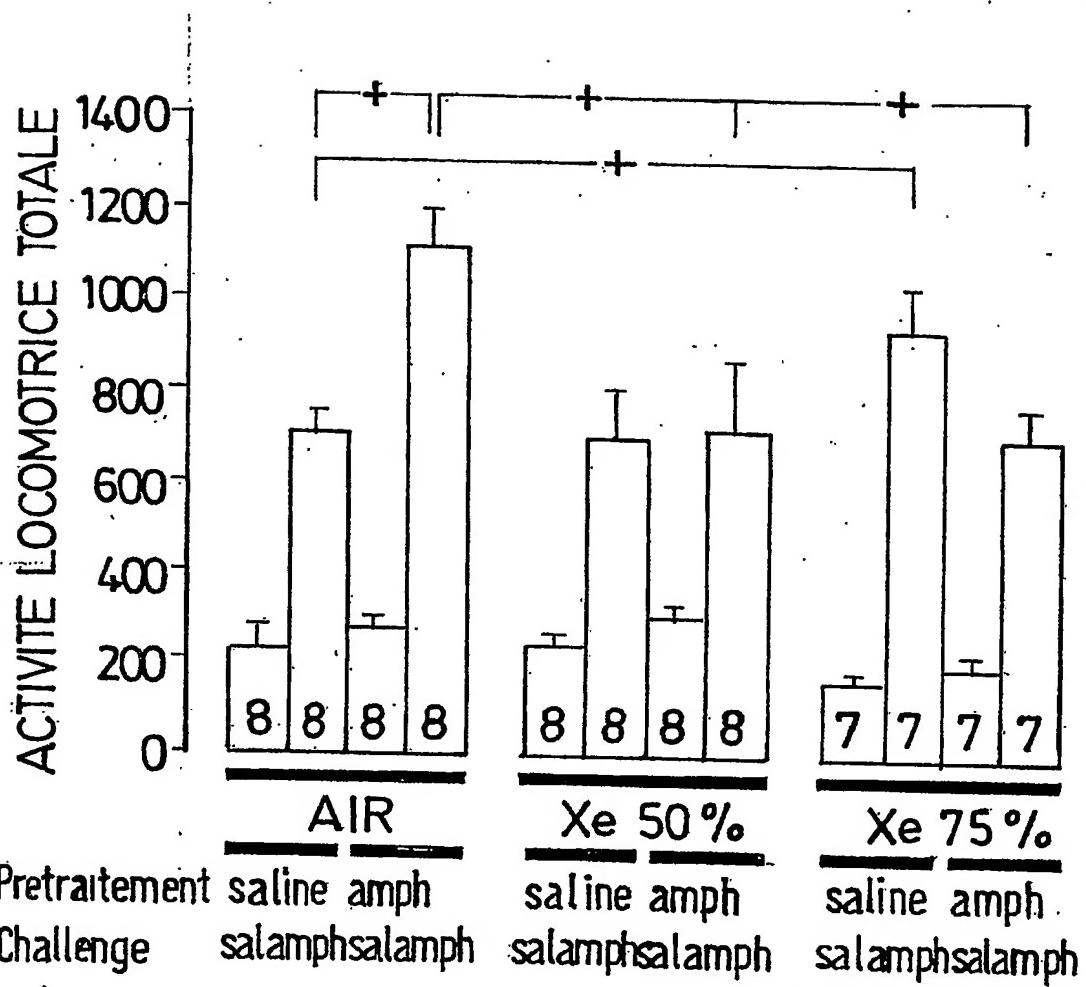
FIGURE 1

1/3

FIG.1

**FIGURE 2**

2/3

 $+ P < 0.05$ FIG.2

3 / 3

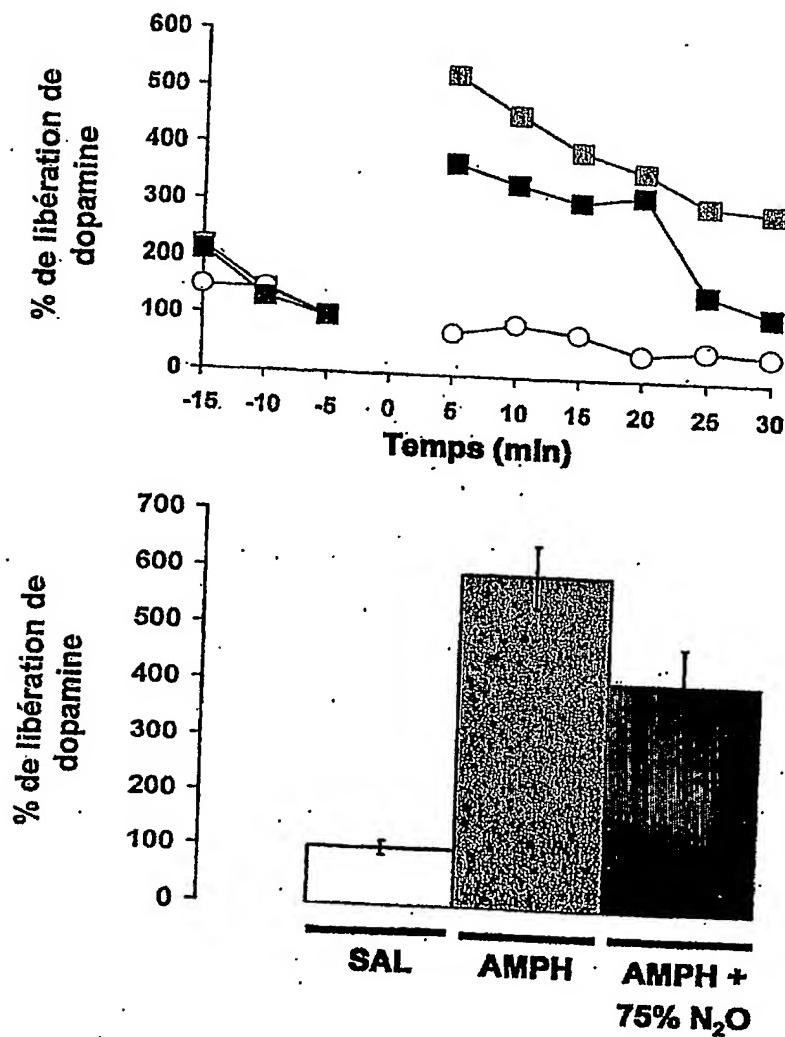


FIGURE 3

3/3

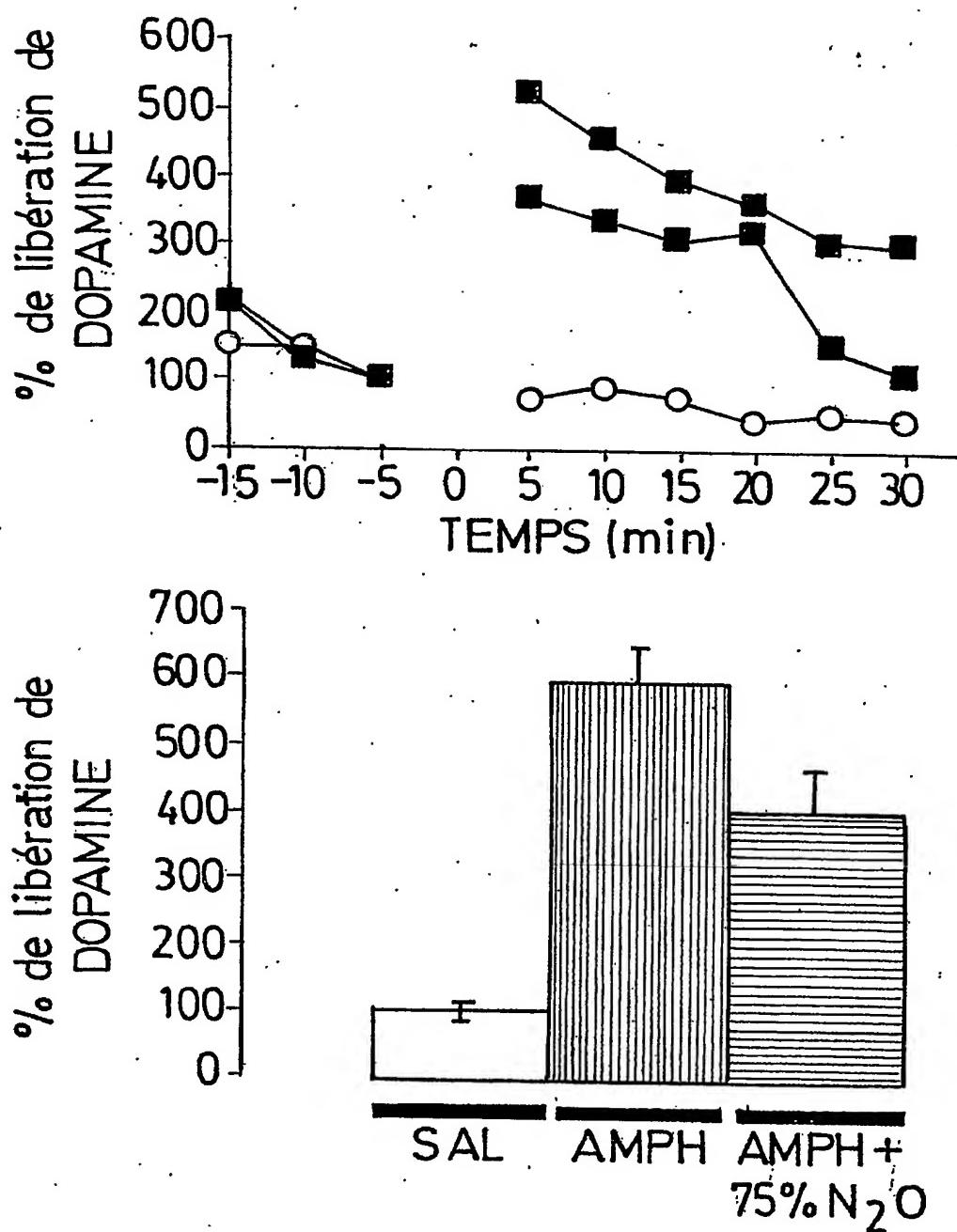


FIG.3



# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITE

## Désignation de l'inventeur

Vos références pour ce dossier	S6132OP/MM
N°D'ENREGISTREMENT NATIONAL	0350383 -
TITRE DE L'INVENTION	
Médicament gazeux inhalable à base de xénon et de protoxyde d'azote	
LE(S) DEMANDEUR(S) OU LE(S) MANDATAIRE(S):	
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S):	
Inventeur 1	
Nom	LEMAIRE
Prénoms	Marc
Rue	6 rue Joanes
Code postal et ville	75014 PARIS
Société d'appartenance	
Inventeur 2	
Nom	ABRAINI
Prénoms	Jacques
Rue	25 avenue Croix Guérin
Code postal et ville	14000 CAEN
Société d'appartenance	

La loi n°78-17 du 6 Janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire.  
Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

Signataire: FR, L'Air Liquide SA, O.Pittis

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

AIR LIQUIDE SANTE (INTERNATIONAL) (Demandeur 1)

PCT/FR2004/050352



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**